

Title	Hepatocyte nuclear factor-4 α is essential for glucose-stimulated insulin secretion by pancreatic β -cells
Author(s)	三浦, 温子
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	https://hdl.handle.net/11094/46173
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について ご参照 ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏 名 三 浦 温 子

博士の専攻分野の名称 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 第 20089 号

学 位 授 与 年 月 日 平成 18 年 3 月 24 日

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第 4 条第 1 項該当

医学系研究科生体制御医学専攻

学 位 論 文 名 Hepatocyte nuclear factor-4 α is essential for glucose-stimulated insulin secretion by pancreatic β -cells
(膵 β 細胞の糖応答性インスリン分泌における HNF4 α の重要性)

論 文 審 査 委 員 (主査)

教 授 下村伊一郎

(副査)

教 授 荻原 俊男 教 授 宮崎 純一

論 文 内 容 の 要 旨

〔 目 的 〕

Maturity-onset diabetes of the young (MODY) は常染色体優性遺伝形式を示し、若年発症する 2 型糖尿病である。MODY1 は核受容体スーパーファミリーに属する転写因子である hepatocyte nuclear factor(HNF)-4 α 遺伝子変異により発症し、膵 β 細胞の糖応答性インスリン分泌障害を特徴とする。しかしながら、膵 β 細胞における HNF-4 α の役割については明らかではなく、MODY1 の発症機構は不明である。発症機構の解明を行う上でノックアウトマウスの解析が有用であると考えられるが、HNF-4 α ホモ欠損マウスは胎生致死となる一方、ヘテロ欠損マウスでは耐糖能は正常であり、適切なモデル動物が存在しなかった。今回 HNF-4 α の役割について明らかにする為に、Cre-LoxP 法を用いて膵 β 細胞特異的 HNF-4 α ノックアウト (β HNF-4 α KO) マウスを作製し、MODY1 発症機構の解明を試みた。

〔 方法ならびに成績 〕

- (1) HNF-4 α 遺伝子のエクソン 4 とエクソン 5 を含むように LoxP を挿入した HNF-4 α FLOX マウスと膵 β 細胞特異的に Cre を発現する RIP-Cre マウスを交配して、膵 β 細胞特異的ノックアウト (β HNF-4 α KO) マウスを作製した。ウェスタンブロッティング法にて HNF-4 α 蛋白発現量を確認したところ、肝臓や腎臓では同等の発現を示していたが、膵島では β HNF-4 α KO マウスで発現量が正常の約 1 割程度まで減少していた。
- (2) β HNF-4 α KO マウスは体重及び随時血糖ではコントロール群と有意な差はなかったが、腹腔内糖負荷試験では耐糖能の低下と初期インスリン分泌の低下が認められ、MODY1 に特徴的な糖応答性インスリン分泌障害を呈した。また腹腔内インスリン負荷試験では有意差はなく、インスリン感受性は保たれていた。
- (3) 組織学的には膵島の形態や膵島量、 β -cell mass 及びインスリン含量は正常であった。 β 細胞に発現しインスリン分泌に関与していると思われる主要な遺伝子発現について real-time RT-PCR 法を用いて検討を行った。これまでに in vitro で HNF-4 α の標的遺伝子といわれていた insulin、HNF1 α 、GLUT2、aldolase B についてはコントロール群と β HNF-4 α KO 群で発現量に差は認められなかった。その他糖代謝酵素 GK、G6Pase や転写子 PDX-1、NeuroD、NKx6.1、Pax6、Foxo1、PGC-1 α 、HNF1 β 、SHP についても有意な差は認めなかった。

- (4) β HNF-4 α KO の単離膵島を用いた検討では、グルコースやスルホニル尿素剤刺激に対するインスリン分泌や細胞内 Ca^{2+} 上昇の障害が認められたが、KCl やアルギニン、GLP-1 刺激に対する反応は保たれていた。また高グルコース刺激による NAD(P)H 生成や ATP 含量は β HNF-4 α KO マウスで保たれていた。
- (5) K_{ATP} チャネルを構成する Kir6.2 と SUR1 の発現量は、real-time RT-PCR 法及びウェスタンブロッティング法にてコントロール群と β HNF-4 α KO 群で有意差は認められなかった。パッチクランプ法により K_{ATP} チャネル活性について検討したところ、 β HNF-4 α KO マウスでは電流密度が有意に増加しており、グルコース刺激に対しても有意な電流密度の抑制が認められなかった。

〔 総 括 〕

HNF-4 α の役割について明らかにする為に、Cre-LoxP 法を用いて膵 β 細胞特異的に HNF-4 α をノックアウトし、MODY1 モデルマウスを作製した。 β HNF-4 α KO マウスでは耐糖能低下及び初期インスリン分泌の低下が認められた。グルコースやスルホニル尿素剤に対する細胞内 Ca^{2+} 反応の低下及びインスリン分泌の低下、 K_{ATP} チャネルの電流密度抑制効果の低下を認めたことから、 β HNF-4 α KO マウスの膵 β 細胞における K_{ATP} チャネル活性の機能障害の存在が示唆された。 K_{ATP} チャネルは膵 β 細胞におけるインスリン分泌反応に重要であり、 K_{ATP} チャネル活性の異常が MODY1 におけるインスリン分泌障害に関与している可能性が考えられた。

論文審査の結果の要旨

本研究は、転写因子である Hepatocyte nuclear factor(HNF)-4 α の遺伝子変異が糖尿病 (MODY1) を発症する機序につき、ノックアウトマウスを用いて検討したものである。申請者は、新たな MODY1 のモデル動物として Cre-LoxP 法を用いて膵 β 細胞特異的 HNF-4 α ノックアウト (β HNF-4 α KO) マウスを作製した。 β HNF-4 α KO マウスでは耐糖能低下及び初期インスリン分泌の低下、グルコースやスルホニル尿素剤に対する細胞内 Ca^{2+} 反応の低下及びインスリン分泌の低下、 K_{ATP} チャネルの電流密度抑制効果の低下が認められた。本研究は、 K_{ATP} チャネルの異常が β HNF-4 α KO マウスにおけるインスリン分泌不全に関与していることを明らかにしたものであり、MODY1 の発症機序の解明に大きく貢献しており、その成果は意義深く、学位の授与に値すると思われる。